

Aus der Kinderklinik der Freien Universität Berlin
Kaiserin Auguste Viktoria Haus Berlin

STUDIEN ÜBER DEN KERNIKTERUS JUNGER GUNN-RATTEN:

Einwirkungen verschiedener Medika-
mente während der Fototherapie

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Bernhard Slama
aus Berlin

1976

Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Kinderklinik der Freien Universität Berlin
Kaiserin Auguste Viktoria Haus Berlin

STUDIEN ÜBER DEN KERNIKTERUS JUNGER GUNN-RATTEN:

Einwirkungen verschiedener Medika-
mente während der Fototherapie

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Bernhard Slama
aus Berlin

Referent: Professor Dr.med.L.Ballowitz
Korreferent: Professor Dr.med. Oberdisse



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fach-
bereiche der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 13.I.76

I N H A L T S Ü B E R S I C H T

=====

I. EINLEITUNG	S. 3
II. VERSUCHSBESCHREIBUNG	
A. Die Gunn-Ratte als Versuchstier ..	S. 6
B. Die Methode	S. 7
III. ERGEBNISSE	
A. Mortalitätsrate und Gewichts- verhalten.....	S. 13
B. Histo - chemische Ergebnisse	S. 18
C. Serumbilirubin-Bestimmung	S. 20
IV. DISKUSSION	S. 28
V. ZUSAMMENFASSUNG	S. 34
VI. LITERATURVERZEICHNIS	S. 37

I. E I N L E I T U N G

Bei Neugeborenen besteht zwischen der Bilirubinkonzentration im Serum und der Entwicklung eines Kernikterus ein direkter Zusammenhang. 1952 haben HSIA und Mitarbeiter (15) darauf hingewiesen, daß man bei einem Anstieg des Serumbilirubins auf 16 - 30 mg% mit einem Kernikterus in etwa 18%, bei Werten über 30 mg% in 50% rechnen muß.

Um diese mit charakteristischen neurologischen Veränderungen einhergehende Enzephalopathie zu verhindern, wird bei ikterischen Neugeborenen der Serumbilirubinspiegel als Richtmaß für die Notwendigkeit einer entsprechenden Therapie herangezogen.

Die aufwendigste Behandlung stellt die Austauschtransfusion dar. Durch diesen Eingriff kann der Serumbilirubinspiegel rasch gesenkt werden. Weniger aufwendig ist die Fototherapie. 1958 versuchten erstmals CREMER und Mitarbeiter (8) durch Anwendung von blauem Licht die Fotosensibilität des Bilirubins therapeutisch auszunutzen. Beim Einwirken von Licht auf Bilirubin zerfällt dieses durch Fotooxydation in wasserlösliche Spaltprodukte. Dieser Effekt wird heute klinisch in großem Umfang zur Senkung einer Hyperbilirubinämie genutzt. Die Zahl der Austauschtransfusion wird dadurch beträchtlich vermindert.

Daß die Gefahr der Entwicklung eines Kernikterus nicht allein von der Höhe der Serumbilirubinkonzentration abhängt, wurde klinisch erstmals 1956 von SILVERMAN und Mitarbeitern (28) herausgestellt. Sie beob-

achteten bei Frühgeborenen, die mit einem Sulfonamid (Sulfisoxazol) behandelt worden waren, erhöhte Letalität und Kernikterusinzidenz verglichen mit Frühgeborenen gleicher Gewichtsgruppen, die Tetracycline erhalten hatten.

JOHNSON und Mitarbeiter (17) konnten in Versuchen mit Gunn-Ratten -einem Rattenstamm bei dem infolge eines genetisch bedingten Defektes der Glucuronyltransferase eine lebenslange Hyperbilirubinämie besteht- klarstellen, daß die Zufuhr von Substanzen, die Bilirubin aus der Albuminbindung verdrängen, das Risiko eines Kernikterus erhöht. Das Serumbilirubin sank nach der Verabreichung derartiger Stoffe ab.

In der Kinderklinik der FU Berlin hat seit 1969 eine Arbeitsgruppe um BALLOWITZ, HANEFELD und NATZSCHKA an Gunn-Ratten Untersuchungen durchgeführt zu Fragen der Fototherapie und des Einflusses verschiedener Medikamente auf die Folgen der Gelbsucht. (1,2,11,12,13,18) KRISPONEIT hat im Rahmen dieser Untersuchungen in seiner Dissertationsschrift den Einfluß von Kurz- und Langzeitsulfonamiden studiert. Er konnte feststellen, daß sich der durch diese Medikamente bei den Ratten induzierbare Ganglienzellschaden durch Fototherapie verhindern bzw. abschwächen ließ.

Gunn-Ratten werden auch für die dieser Arbeit zugrunde liegenden Untersuchungen verwendet. Es soll speziell der Effekt von Benzoaten auf das Serumbilirubin und die Kernikterusinzidenz bei homozygoten jungen Ratten, die bestrahlt oder im dunkeln ge-

halten werden, geprüft werden.

Aus der Literatur (7,14,17,30,31) war bekannt, daß Coffeinum natrium benzoicum bzw. der Benzylalkohol und Natriumbenzoat enthaltende Lösungsvermittler und Stabilisator des Valium^R injectabile (Diazepam) = VIL , Bilirubin aus der Albuminbindung verdrängen.

II. V E R S U C H S B E S C H R E I B U N G

A. Die Gunn-Ratte als Versuchstier

Gunn-Ratten sind eine Mutante der Wistar-Ratten. Infolge eines hereditären rezessiv vererblichen Mangels an Glucuronyltransferase ist eine Koppelung des indirekten Bilirubins mit der Glucuronsäure und somit die Umwandlung in das direkte, wasserlösliche Bilirubin bei homozygoten Tieren nicht möglich. Folglich besteht bei ihnen eine lebenslange Hyperbilirubinämie (SCHMID und Mitarbeiter (25)).

JOHNSON und Mitarbeiter (16) stellten bei ihren Untersuchungen an homozygoten Gunn-Ratten fest, daß sich bei etwa 60% von ihnen innerhalb der ersten drei Lebenswochen eine Bilirubinencephalopathie entwickelt, die sich klinisch durch Gewichtsverlust, Hypotonie, ziellose Hyperaktivität, ataktische und unkoordinierte Bewegungen und gelegentlich durch klonische Zuckungen bemerkbar macht. Die Tiere, die am Kernikterus verstarben, zeichneten sich durch höhere Bilirubinspiegel und charakteristische ikterische Verfärbung des Gehirns, insbesondere der Colliculi inferiores, der Basalganglien, der Thalamuskerns sowie des Kleinhirns aus. Bei der histologischen Untersuchung von in Paraffin gebetteten und mit Haematoxylin-Eosin gefärbten Gewebsschnitten fanden sich mehr oder weniger veränderte Ganglienzellen, die sich leer mit peripher gelagerten Kernen und -in einem späterem Stadium- geschrumpft mit pyknotischen Kernen zeigten.

B. Die Methode

In dieser Versuchsreihe sollen das Gewichtsverhalten, das Serumbilirubin und Kleinhirnveränderungen bei den Gunn-Ratten nach Injektion von DIAZEPAM (Valium^R) injectabile, COFFEINUM NATRIUM BENZOICUM, SULFADIMETHOXIN (Madribon^R) und dem Lösungsmittler von Diazepam (VIL = Valium injectabile Lösungsmittler) untersucht werden.

Es war geplant, den Tieren nur eine hochdosierte Medikamenteninjektion zu verabfolgen und unmittelbar danach mit der Bestrahlung zu beginnen. Deshalb wurde an 3-5 Tage alten heterozygoten Gunn-Ratten zunächst die LD 50 nach BEHRENS und KÄRBER (6) bestimmt.

Die Toxizität von Sulfadimethoxin (Madribon^R) war an diesen Tieren bereits von KRISPONEIT (18) ermittelt worden, so daß ich nur die LD 50 der übrigen Medikamente feststellte. Sie betrug für Diazepam (Valium^R) injectabile <50 mg/kg, für Coffeinum n.b. 350 - 400 mg/kg und für den Lösungsmittler von Diazepam (VIL) 10 ml/kg. Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit Informationen aus der Literatur (Tabelle 1).

Die homozygoten Versuchstiere erhielten dann eine Medikamentendosis von etwa einem Drittel bis zur Hälfte der LD 50.

Benutzt wurden Ampullen aus Klinikpackungen. Der darin neben dem eigentlichen Wirkstoff enthaltene Lösungsmittler hat nach Angabe seiner Hersteller je ml folgende

Zusammensetzung:

SULADIMETHOXIN	: Natrium pyrosulfid	0,5 mg
(Madribon ^R)	Diäthanolamin	4,2 mg
	NaOH	13,0 mg

DIAZEPAM

(Valium ^R) injectab.:	Propylenglykol	400,0 mg
	Äthylalkohol	100,0 mg
	Natriumbenzoat (=VIL)	50,0 mg
	Benzylalkohol	15,0 mg
	Benzoessäure	1,2 mg

Die Medikamente wurden in verschiedenen Konzentrationen und Kombinationen insgesamt 202 homozygoten Gunn-Ratten aus 29 Würfen injiziert. Die Tiere waren 3 - 5 Tage alt, wogen 8 - 10 g und hatten einen Bilirubinspiegel im Serum von 8 - 9 mg% .

Nach der Medikamenteninjektion und vorherigen Ermittlung des Ausgangsgewichts und -Serumbilirubins wurde ein Teil der Ratten-Säuglinge im Dunkeln gehalten, während die anderen einem besonderen blauen Licht ausgesetzt wurden.

Verwendet wurden die Leuchtstofflampen, die sich bei den von HAMPEL (11) durchgeführten Vergleichen mit verschiedenen Lichtfarben am effektivsten zur Fotooxydation des Bilirubins erwiesen hatten. Auf einem Gestell waren 6 blaue Leuchtstoffröhren (Westinghouse F 20 T 12 BB) so befestigt, daß die Strahlen die Käfige mit den Gunn-Ratten aus einer Entfernung von etwa 30 cm sowohl von oben als auch von unten trafen. Bei diesem Abstand betrug die Temperatur, der die Ver-

suchstiere ausgesetzt waren, ungefähr 28°C und die Strahlungsenergie im Wellenbereich zwischen 400 und 500 nm 3400 $\mu\text{Watt}/\text{cm}^2$. Die nicht zu bestrahlenden Ratten wurden durch schwarze Vorhänge von jeglicher Licht- einwirkung abgeschirmt. Die Standorttempe- ratur betrug ebenfalls ca. 28°C.

Tabelle 1:

Akute Toxizität der verschiedenen Medikamente

Medikament	ermittelte LD 50 bei 3-5 Tage alten heterozygoten Gunn- Ratten nach einer s.c. Injektion	Literatur- information über die LD 50
SULFADIMETHOXIN (Madribon ^R)	1000 mg/kg	> 4000 mg/kg p.o. bei erwachsenen Ratten (Hoffmann-La Roche Forsch.L.)
COFFEINUM NATRIUM BENZ.	350-400 mg/kg	reines Coffein 200-300 mg/kg bei Ratten (Merck Forsch.L.)
DIAZEPAM (Valium ^R) inject.	< 50 mg/kg	32 mg/kg i.v. bei Ratten (RANDALL u.Mit.) 24 mg/kg bei Mäusen (Hoffmann-La Roche Forsch.L.)
VIL (Valium ^R in- jectabile Lö- sungsvermittler)	10 ml/kg	5 ml/kg bei Mäusen (Hoffmann-La Roche Forsch.L.)

Die Versuche dauerten 4 Tage. Während dieser Zeit wurden auch die Rattenmütter, die die Jungen zu säugen hatten, entweder im Dunkeln oder im Licht gehalten. Um ausreichendes Säugen zu gewährleisten, hatte eine Mutter höchstens 7 Junge zu versorgen. Sie selbst erhielt ein Standard-Ratten-Trockenfutter (Altromin R 15) und Leitungswasser ad libitum. Täglich wurden die Jungen gewogen und somit das Gewichtsverhalten bzw. die Mortalität beobachtet.

Den jungen Ratten wurde vor jeder Medikamenteninjektion und 30 Minuten bzw. 3 und/oder 24 bzw. 48 Stunden danach ausdem Schwanz etwa 20 μ l Blut zur Bestimmung der Bilirubinkonzentration entnommen. Dabei wurde keinem Tier mehr als dreimal insgesamt und nicht mehr als zweimal täglich Blut entnommen. Die Bilirubinkonzentration im Serum wurde photometrisch bestimmt. (American Optical Bilirubinometer)

Um eine Kontrolle darüber zu haben, ob ein etwaiger Gewichtsverlust bei den Versuchstieren auf ungenügende Nahrungszufuhr zurückzuführen ist, fügten wir jeder Versuchsgruppe im Dunkeln und unter dem Licht ein oder zwei nicht mit Medikamenten behandelte heterozygote Kontroll-Ratten bei. Diejenigen Versuche, in denen diese Kontrolltiere starben bzw. an Gewicht verloren, wurden in unseren Mortalitätsberechnungen nicht berücksichtigt.

Von verschiedenen Ratten-Säuglingen, die die Versuchsperiode von 4 Tagen überlebten, wurde in Zusammenarbeit mit HANEFELD und KRETSCHMER das Kleinhirn hinsichtlich

seiner Purkinje-Zellzahl untersucht. Nach der Dekapitation und Herauspräparation des Gehirns wurden die Gehirne entweder in 10% Formol-Ca fixiert, in Paraffin gebettet, in 6/10 dicke Stücke geschnitten und anschließend mit Hämatoxilin-Eosin und Cresylviolett gefärbt oder im Anschluß an ein Schnelfrierverfahren in kleine Blöcke geschnitten, von denen dann Serienschritte bei -25°C für histochemische Untersuchungen hergestellt wurden.

Bei diesem von BARKA und ANDERSON (5) beschriebenen Verfahren wird mit Hilfe von NitroBT und Tetrazolium-Salz die Aktivität oxydativer Enzyme, der Laktat-Dehydrogenase (LDH), der Succinat-Dehydrogenase (SDH) und der Nicotinamid-Dehydrogenase-Tetrazolium-Reduktase ($\text{NADH}_2\text{-R}$) dargestellt. An den Stellen, an denen eine Enzym-Aktivität zu verzeichnen ist, bilden sich, infolge einer Reduktion des gelben Nitro BT blaue intrazelluläre Körnchen. Diese Methode hat den Vorteil, daß sie auf Grund herabgesetzter oxydativer Enzymaktivität Zellschäden schon im Anfangsstadium eines Kernikterus aufzeigt. Nach dem herkömmlichen HE-Färbungsverfahren erscheinen nämlich solche Zellen, die zwar in vivo durch die zytotoxische Bilirubinwirkung bereits eine Schädigung jedoch noch keine völlige Zerstörung erfahren haben, noch als normal gefärbte Purkinje-Zellen.

Bei der Auswertung konnten wir den Grad einer Purkinje-Zellveränderung besser mit der histochemischen Methode erfassen. Je nach Schädigung bzw. Verlust der Purkinjezellen, wurde die Zellzahl als normal ^N, fraglich normal (+), leicht vermindert (bzw.

geschädigt) ⁺ und stark vermindert (bzw.
geschädigt) ⁺⁺ bewertet.

III. ERGEBNISSE

A. Mortalitätsrate und Gewichtsverhalten

In der Tabelle 2 ist die 4 Tage-Überlebensrate der bestrahlten bzw. nicht-bestrahlten Gunn-Ratten-Babys aufgezeigt.

Bei den homozygoten Kontrolltieren, die keinerlei Medikamente injiziert bekamen, überstanden von 43 nicht bestrahlten Tieren die 4 Tage nur 28 (=65%) während von der gleichen Anzahl bestrahlter Tiere 38 (=88%) überlebten.

Eine einzige Injektion von Valium, VIL, Coffeinum n.b. oder Madribon in einer Dosis, die etwa 1/3 (bei Madribon 1/10) der LD 50 entsprach, veränderte die Überlebenschancen kaum. Bei einer höheren Konzentration von VIL (Verdünnung 1:2) überlebten bei den nicht bestrahlten Ratten-Babys von 7 nur 2 (=29%), während alle 4 bestrahlten Tiere am Leben blieben.

Kombiniert man die einzelnen Medikamente miteinander, so kann man feststellen, daß bei den nicht dem Licht ausgesetzten Tieren bei der Kombination VIL 1:3 (0,01 ml/g) + Coffeinum n.b. 100 mg/kg und bei der Kombination VIL 1:3 (0,01 ml/g) + 100 mg/kg Madribon von 24 Tieren nur eines überlebte, während die bestrahlten Gunn-Ratten zu 56% bzw. 67% die Testperiode überstanden.

Die mittlere Gewichtszunahme der Ratten-Säuglinge, die eine Medikamenten-Injektion über den Zeitraum von 4 Tagen überstanden, ist der Tabelle 3 zu entnehmen.

Tabelle 2:

4 Tage-Überlebensrate homozygoter junger Gunn-Ratten
nach Injektion von Stoffen, die Bilirubin aus der Al-
buminbindung verdrängen:

	nicht bestrahlt		bestrahlt	
	Zahl der unter- suchten Tiere	Zahl der Überle- benden	Zahl der unter- suchten Tiere	Zahl der Überle- benden
Kontrolltiere (homozyg.)	43	28 (65%)	43	38 (88%)
VIL 1:3 + (0,01 ml/g)	17	13 (76%)	19	18 (95%)
COFFEINUM N.B. (100 mg/kg)	12	7 (58%)	11	8 (73%)
MADRIDON ^R (100 mg/kg)	13	7 (54%)	12	12 (100%)
VIL 1:3 + (0,01 ml/g) + COFF.N.B. (100 mg/kg)	12	1 (8%)	16	9 (56%)
VIL 1:3 + (0,01 ml/g) + MADRIDON ^R (100 mg/kg)	12	0 (0%)	12	8 (67%)
VIL 1:2 + (0,01 ml/g)	7	2 (29%)	4	4 (100%)
VIL 1:2 + (0,01 ml/g) + COFF.N.B. (50 mg/kg)	2	0 ---	2	1 (50%)
VIL 1:2 + (0,01 ml/g) + COFF.N.B. (100 mg/kg)	8	0 ---	8	2 (25%)
VIL 1:2 + (0,01 ml/g) + COFF.N.B. (200 mg/kg)	3	0 ---	3	0 ---
VALIUM ^R 1:3 + (0,01 ml/g = 17 mg/kg)	3	2 (66%)	2	2 (100%)

+ mit Aqua dest. verdünnte Lösung

Tabelle 3:

Mittlere Gewichtszunahme homozygoter junger Gunn-Ratten
nach Injektion von Stoffen, die Bilirubin aus der Al-
buminbindung verdrängen:

NICHT BESTRAHLT			BESTRAHLT	
	% der überle- benden Tiere	mittlere Gewichts- zunahme in 4 Tagen	% der überle- benden Tiere	mittlere Gewichts- zunahme in 4 Tagen
Kontrolltiere (homozyg.)	65%	5,46 ±2,65	88%	5,35 ±2,29
VIL 1:3 ⁺ (0,01 ml/g)	76%	5,25 ±2,78	95%	3,70 ±1,65
COFFEINUM N.B. (100 mg/kg)	58%	3,07 ±2,59	73%	1,98 ±1,13
MADRIBON ^R (100 mg/kg)	54%	3,46 ±2,36	100%	5,37 ±1,04
VIL 1:3 ⁺ (0,01 ml/g) + COFF.N.B. (100 mg/kg)	8%	7,52	56%	1,94 ±1,06
VIL 1:3 ⁺ (0,01 ml/g) + MADRIBON ^R (100 mg/kg)	---	-----	67%	1,49 ±3,10
VIL 1:2 ⁺ (0,01 ml/g)	29%	4,67	100%	6,30
VIL 1:2 ⁺ (0,01 ml/g) + COFF.N.B. (50 mg/kg)	---	-----	50%	0,47
VIL 1:2 ⁺ (0,01 ml/g) +COFF.N.B. (100 mg/kg)	---	-----	25%	-2,12
VALIUM ^R 1:3 ⁺ (0,01 ml/g = 17 mg/kg)	66%	4,89	100%	3,61

+ mit Aqua dest. verdünnte Lösung

Tabelle 4 :

Differenz zwischen der mittleren Gewichtszunahme der
injizierten Gunn-Ratten und ihrer entsprechenden nicht-
injizierten Kontrolltiere während der 4-Tage-Testperiode:

	NICHT BESTRAHLT			BESTRAHLT		
	mittlere Ge- wichts- zunahme der in- jizier- ten Rat- ten	mittlere Ge- wichts- zunahme der ent- spre- chenden Kontroll- tiere	Diffe- renz von Spalte 1 u. 2	mittlere Ge- wichts- zunahme der in- jizier- ten Rat- ten	mittlere Ge- wichts- zunahme der ent- spre- chenden Kontroll- tiere	Diffe- renz von Spalte 1 u. 2
VIL 1:3 + (0,01ml/g)	5,25 ±2,78	6,84 ±1,42	1,59	3,70 ±1,65	5,04 ±1,01	1,34
COFF.N.B. (100 mg/kg)	3,07 ±2,59	5,23 ±3,39	2,16	1,98 ±1,13	4,00 ±1,43	2,02
MADRIBON R (100 mg/kg)	3,46 ±2,36	6,59 ±0,59	3,13	5,37 ±1,04	7,45 ±2,51	2,08
VIL 1:3 + (0,01 ml/g) + COFF.N.B. (100 mg/kg)	---	---	---	1,94 ±1,06	4,23 ±1,69	2,29
VIL 1:3 + (0,01 ml/g) + MADRIBON R (100 mg/kg)	---	---	---	1,49 ±3,10	6,98 ±2,25	5,49

+ mit Aqua dest. verdünnte Lösung

Ein bemerkenswerter Unterschied in der Gewichtszunahme bei den bestrahlten und nicht bestrahlten homozygoten Kontrolltieren war nicht zu verzeichnen. Es fällt jedoch auf, daß die mit einem Medikament injizierten Gunn-Ratten weniger an Gewicht gewannen als die an der Spitze der Tabelle 3 stehenden Kontrolltiere.

Ein Vergleich der mittleren Gewichtszunahme injizierter homozygoter Ratten-Babys mit ihren individuellen, aus dem gleichen Wurf stammenden, gleichen Bedingungen (z.B. gleich gut bzw. weniger gut laktierende Mutter) ausgesetzten Kontrolltieren ist in der Tabelle 4 angestellt worden.

Es ist ersichtlich, daß die injizierten homozygoten Ratten-Babys -nicht bestrahlte aber auch bestrahlte- weniger an Gewicht zunahmen als die ihnen während der Testperiode beigefügten nicht-injizierten Kontrolltiere. Die Größe dieser Gewichtszunahme-Differenz ist bei den einzelnen Medikamenten und Medikamentenkombinationen verschieden. Am geringsten ist sie bei den Tieren, die sich in der Mortalitätstabelle nicht wesentlich von den homozygoten Kontrolltieren unterscheiden. Hingegen nahmen nach der Injektion von VIL + Madribon, bei der keines der im Dunkeln gelassenen Tiere die 4-Tage-Testperiode überlebte, die bestrahlten injizierten Tiere bedeutend weniger zu als ihre entsprechenden nicht-injizierten Kontrolltiere.

B. Histo-chemische Ergebnisse

Nachdem bereits festgestellt werden konnte, daß eine Bestrahlung der Gunn-Ratten-Babys sich vor allem bei der Kombination der verschiedenen Medikamente bzw. Lösungsvermittler günstig auf die Mortalitätsrate ausgewirkt hat, stellt sich die Frage nach der Beschaffenheit der Purkinje-Zellen bei den überlebenden Tieren.

Die Resultate histo-chemischer Untersuchungen von Kleinhirnen bestrahlter und nicht-bestrahlter Gunn-Ratten, die nach Medikamenten-Injektionen die 4-Tage-Testperiode überlebten, sind entsprechend in der Tabelle 5 zusammengestellt.

Da bei der Anwendung einer Kombination von VIL + Coffeinum n.b. bzw. VIL + Madribon im Dunkeln eine so hohe Mortalität zu verzeichnen war, mußten einige sterbende Tiere vor Ablauf des Versuchszeitraumes getötet werden, um sie für histochemische Untersuchungen verwerten zu können.

Es läßt sich ablesen, daß sowohl nach der Injektion nur eines Medikamentes als auch nach der Kombination zweier Medikamente nahezu alle im Dunkeln gehaltenen Ratten eine leichte bis deutliche Abnahme der Purkinje-Zellzahl zeigten, während bei den meisten bestrahlten Tieren eine normale bis fraglich normale Anordnung der Purkinje-Zellen zu erkennen war. Doch bei der Kombination von Madribon + VIL wurde auch bei den bestrahlten Ratten eine Verschiebung von normalen zu anormalen Nervenzellen deutlich, die sich schon bei der alleinigen Gabe

von Madribon abzeichnete. Hier konnte durch eine Bestrahlung der Tiere die schädigende Wirkung der medikamentös induzierten Bilirubinverschiebung zwar gemildert, jedoch nicht gänzlich kompensiert werden.

Tabelle 5 :

Beurteilung der Purkinje-Zellen im Kleinhirn homozygoter Gunn-Ratten-Babys nach der Injektion verschiedener Wirkstoffe (nach BALLOWITZ u. HANEFELD):

	NICHT - BESTRAHLT			
	Anzahl der untersuchten Tiere	N (+) + ++		
VIL 1:3 (0,01 ml/g) oder VALIUM ^R injectabile (0,01ml/g=17mg/kg)	11	- 4	2	5
COFFEINUM N.B. (100-200mg/kg)	5	- -	4	1
MADRIBON ^R (100-300mg/kg)	6	- -	2	4
VIL 1:3 (0,01 ml/g) + COFF.N.B. (100-200mg/kg)	3	- -	2	1
VIL 1:3 (0,01 ml/g) + MADRIBON (100-300mg/kg)	3	- -	2	1
=====				
	BESTRAHLT			
VIL 1:3 (0,01 ml/g) oder VALIUM ^R injectabile (0,01ml/g=17mg/kg)	15	15 -	-	-
COFFEINUM N.B. (100-200mg/kg)	5	4 1	-	-
MADRIBON ^R (100-300mg/kg)	19	1 14	-	4
VIL 1:3 (0,01 ml/g) + COFF.N.B. (100-200mg/kg)	9	8 -	-	1
VIL 1:3 (0,01 ml/g) + MADRIBON (100-300mg/kg)	12	1 4	4	3
=====				
N=normale Zellzahl (+)=fraglich normale Zellzahl +=leicht verminderte Zellzahl ++=stark verminderte Zellzahl				

Abb. zu Tabelle 5 :



Abb. a: normale Purkinje-Zellzahl = N



Abb. b: fraglich normale Zellzahl = (+)

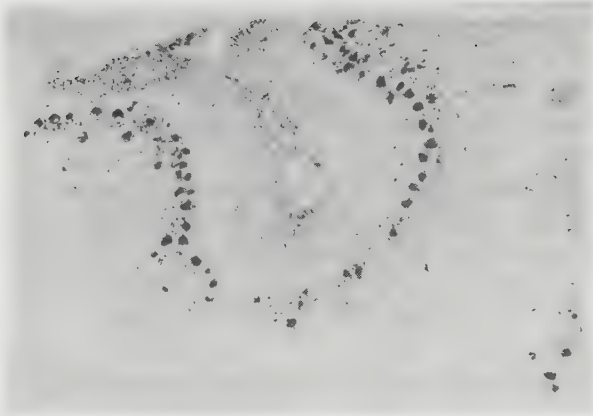


Abb. c: leicht verminderte Zellzahl = +

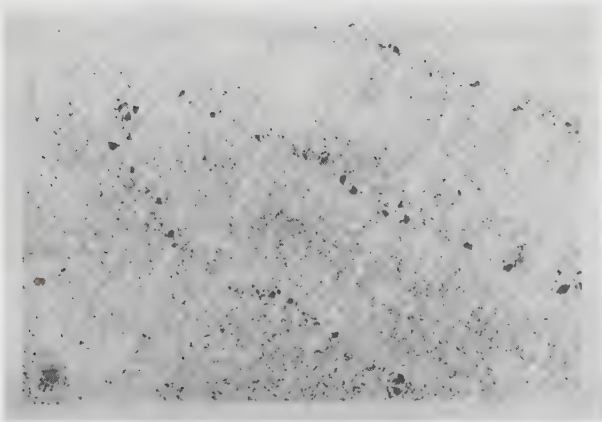


Abb. d: stark verminderte Zellzahl = ++

C. Serumbilirubin-Bestimmung

Die Serumbilirubin-Werte, die zu den verschiedenen Zeiten nach den Medikamenten-Injektionen erreicht wurden, sind der Tabelle 6 und den Abbildungen 1-6 zu entnehmen. Um einen besseren Vergleich zu ermöglichen, wurden in den Abbildungen die Ausgangsbilirubinwerte gleich 100 gesetzt und die nach 30 Minuten, 3, 24 oder 48 Stunden ermittelten Bilirubinkonzentrationen in Prozent zu diesen Basiswerten angegeben.

Die Bilirubinkonzentration im Serum wurde photometrisch mit dem American Optical Bilirubinometer bestimmt, welches die optische Dichte der zu untersuchenden Probe gleichzeitig auf zwei Wellenlängen (bei 461 nm und 551 nm) mißt.

Die durchgezogenen bzw. gestrichelten oder gepunkteten Linien in den Abbildungen stellen die Serumbilirubinveränderungen der nicht-bestrahlten Gunn-Ratten dar, Punkte, Kreise oder Kreuze beziehen sich auf die bestrahlten Tiere.

Abbildung 1 zeigt die Serumbilirubinveränderungen bei den homozygoten Kontrolltieren, die keinerlei Injektionen erhielten. Bei den nicht-bestrahlten Tieren ist nach 3 Stunden zunächst ein mäßiger Bilirubinanstieg zu verzeichnen, der wohl auf die von außen einwirkenden Reize wie die Blutentnahme, das Umsetzen in die dunklen Regale und den Wechsel von der leiblichen Mutter zu einer Pflegemutter bedingt sein dürfte. Nach anschließender flacher Neigung der Kurve erreicht sie nach 24 Stunden noch nicht ganz den Ausgangswert.

Tabelle 6 :

Verhalten der Serumbilirubinausgangskonzentration 30
Minuten, 3,24 bzw. 48 Stunden nach der Medikamentengabe.
Die Anzahl der Tiere, die diesen Mittelwerten ($\bar{x} \pm \text{SDM}$)
zugrunde liegt, ist den Abb. 1-6 zu entnehmen.

	NICHT BESTRAHLT				BESTRAHLT	
	Beginn	30'	3 ^h	24 ^h	48 ^h	Beginn 24 ^h
Kontrolltiere (homozyg.)	7,8	7,8				
	9,3 $\pm 1,9$		10,4 $\pm 1,4$			
	8,6 $\pm 1,6$			9,9 $\pm 2,1$		8,3 $\pm 1,5$ 5,8 $\pm 0,9$
	9,0 $\pm 0,9$				8,0 $\pm 1,9$	
VIL 1:3 ⁺ (0,01 ml/g)	10,8 $\pm 1,7$	7,5 $\pm 1,3$				
	9,6 $\pm 2,2$		6,8 $\pm 1,6$			
	8,7 $\pm 1,7$			7,9 $\pm 2,1$		8,3 $\pm 1,2$ 4,6 $\pm 1,6$
	8,2 $\pm 1,3$				10,3 $\pm 1,3$	
COFFEINUM N.B. (100 mg/kg)	8,3	5,9	7,6			
	8,2 $\pm 1,4$			11,0 $\pm 0,9$		8,5 $\pm 1,9$ 6,7 $\pm 1,2$
MADRIBON ^R (100 mg/kg)	10,3 $\pm 1,6$	3,4 $\pm 1,1$	1,6 $\pm 0,3$		4,4 $\pm 0,9$	
	9,5 $\pm 2,0$			1,8 $\pm 0,6$		9,1 $\pm 1,2$ 1,2 $\pm 0,9$
VIL 1:3 ⁺ (0,01 ml/g)	12,6 $\pm 1,3$	8,3 $\pm 1,1$	7,9 $\pm 1,0$			
+COFF. N.B. (100 mg/kg)	7,4 $\pm 1,5$			8,3 $\pm 2,1$		8,2 $\pm 1,9$ 5,7 $\pm 1,7$

⁺mit Aqua dest. verdünnte Lösung

(Fortsetzung Tabelle 6)

	NICHT BESTRAHLT				BESTRAHLT	
	Beginn	30'	3 ^h	24 ^h	48 ^h	Beginn 24 ^h
VIL 1:3 ⁺ (0,01 ml/g) _R + MADRIBON (100 mg/kg)	8,3 <u>+1,1</u>	2,5 <u>+0,4</u>				
	8,7 <u>+0,9</u>		1,3 <u>+0,3</u>			
	8,8 <u>+1,5</u>			1,1 <u>+0,8</u>		8,6 <u>+1,3</u> 1,2 <u>+0,4</u>
VIL 1:2 ⁺ (0,01 ml/g)	10,6 <u>+1,0</u>	8,3 <u>+1,4</u>				
	9,4 <u>+1,8</u>		6,5 <u>+1,9</u>			
	7,7 <u>+0,5</u>			6,2 <u>+2,1</u>		7,8 <u>+1,0</u> 4,1 <u>+0,9</u>
COFFEINUM N.B. (200 mg/kg)	8,6	6,2	5,8			
	7,2			11,4		7,9 7,3
MADRIBON ^R (50 mg/kg)	9,9	3,5	1,8		4,7	
	9,1 <u>+0,9</u>			3,1 <u>+0,6</u>		9,0 2,1
MADRIBON ^R (300 mg/kg)	9,9	3,3	1,8			
	10,3			1,4		6,0 0,0
VALIUM ^R 1:3 (0,01 ml/g = 17 mg/kg)	8,2		6,0	7,9		8,6 5,6

+ mit Aqua dest. verdünnte Lösung

Bei den bestrahlten Tieren ist bereits nach 3 Stunden ein Bilirubinabfall erkennbar. Dieser wird nach 24 Stunden noch erheblich deutlicher. Der Spiegel ändert sich am folgenden Tag nur noch geringfügig.

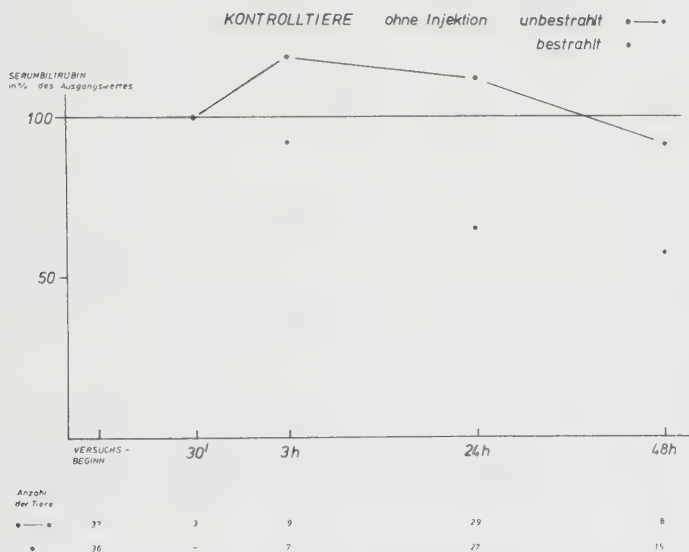


Abb. 1: Serumbilirubin bei nicht-injizierten Kontrolltieren.

Die Abbildung 2 gibt eine Darstellung der Serumbilirubinspiegel nach einer Injektion von COFFEINUM NATRIUM BENZOICUM, VIL und einer Kombination beider Stoffe. Nach 30 Minuten kommt es nach allen drei Injektionen zu einem etwa gleich starkem Serumbilirubinabfall. Doch bereits 3 Stunden nach der Coffeinum n. b. -Injektion erreicht der Bili-

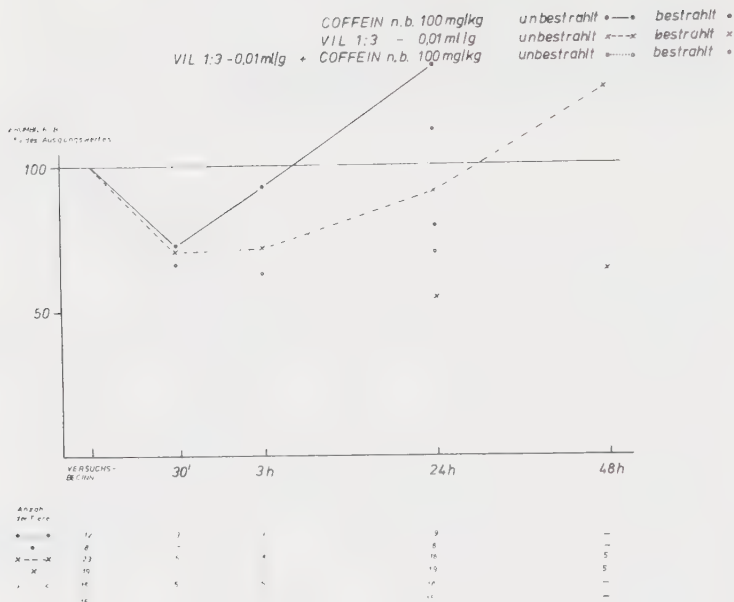


Abb. 2: Serumbilirubin nach einer Injektion von VIL, COFFEINUM N.B. und einer Kombination beider Wirkstoffe.

rubinspiegel fast seinen Ausgangswert wieder, während nach der Injektion von VIL und der Kombination beider Stoffe sich noch kein Wiederaanstieg des Serumbilirubins bemerkbar macht. VIL und seine Kombination mit Coffeinum n.b. erreichen etwa nach 24 Stunden ihren Bilirubin-Basissspiegel.

Auffällig ist noch, daß die Kombination beider Stoffe zu einem schnelleren Wiederaanstieg des Serumbilirubins als die alleinige Injektion von VIL führt. Spekulativ könnte man an eine Folge vermehrter Diurese durch

das Coffeinum n.b. und eine dadurch bedingte raschere Ausscheidung der Benzoatmetaboliten denken.

Ein ähnlicher Effekt läßt sich bei der Zufuhr von Coffeinum n.b. in doppelter Konzentration (200 mg/kg) beobachten. Wie die Abbildung 3 zeigt, folgt dem zunächst länger anhaltendem Bilirubin-Abfall ein steilerer Wiederanstieg nach der höheren Coffeinum n.b.-Dosis.

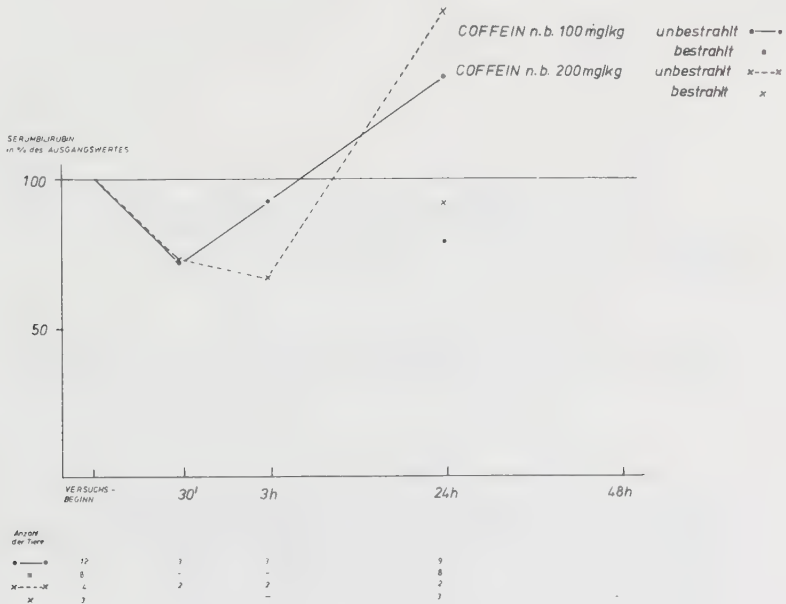


Abb. 3: Serumbilirubin nach Injektionen von COFFEINUM N.B. in verschiedenen Konzentrationen.

Mit einer höheren VIL-Konzentration (1:2) trat dieser Effekt nicht ein. (Abb.4)

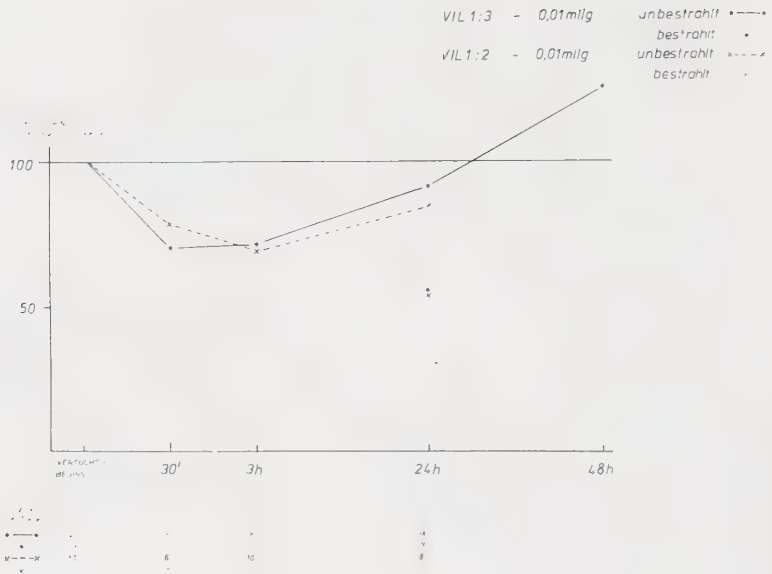


Abb. 4: Serumbilirubin nach Injektionen von VIL in verschiedenen Konzentrationen.

Die Abbildung 5 gibt die Serumbilirubin-Spiegel nach verschieden konzentrierten MADRIBON-Injektionen wieder. (Die Ergebnisse bestätigen die Befunde von KRISPONEIT) Bereits die geringe Dosis von 50 mg/kg senkte das Serumbilirubin etwa gleich stark, wie eine Dosis von 300 mg/kg. Dabei wurden bereits so niedrige Bilirubinspiegel erreicht, daß auch bei einer Kombination mit VIL praktisch kein weiterer Abfall zu bemerken war. (Abb.6)

Bei den bestrahlten Gunn-Ratten-Babys

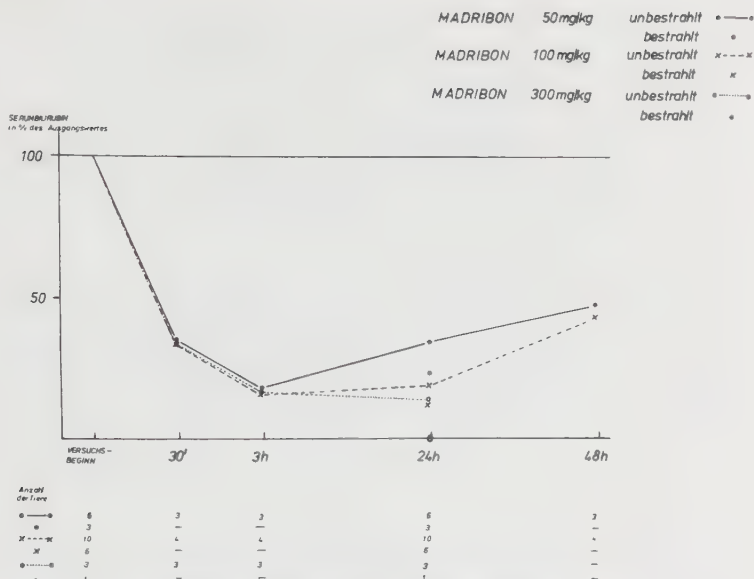


Abb. 5: Serumbilirubin nach Injektionen von MADRIBON in verschiedenen Konzentrationen.

VIL 1:3 - 0,01 ml/g unbestrahlt x---x bestrahlt x
 MADRIBON 100 mg/kg unbestrahlt ●—● bestrahlt ●
 VIL 1:3 - 0,01 ml/g + MADRIBON 100 mg/kg unbestrahlt ○-----○ bestrahlt ○

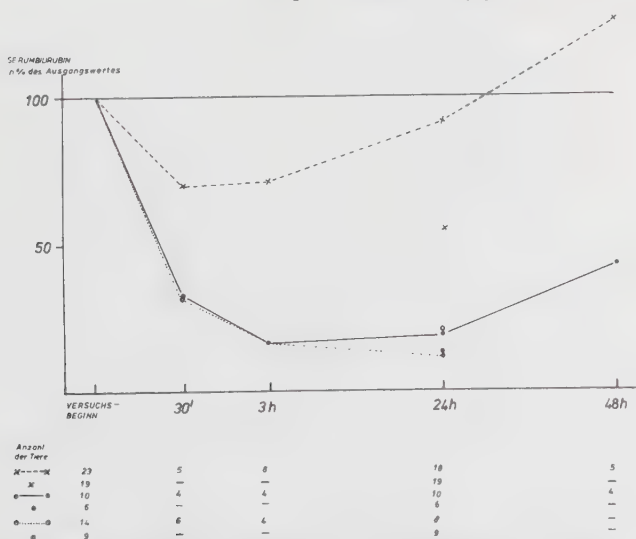


Abb. 6: Serumbilirubin nach Injektionen von VIL, MADRIBON und einer Kombination beider Wirkstoffe.

unterschied sich der Bilirubinwert, der 24 Stunden nach den Madribon-Injektionen gemessen wurde, kaum von dem der nicht-bestrahlten Tiere. Anders verhielt er sich nach der VIL und Coffeinum n.b.-Zufuhr. (Abb.3 und 4) Hier hob er sich deutlich von dem Wert, der bei im Dunkeln gehaltenen Tieren erzielt wurde, ab. Beim VIL ist er noch etwas tiefer als bei den entsprechenden Kontrolltieren abgesunken, während er nach der Injektion von Coffeinum n.b. und dessen Kombination mit VIL (Abb.2) über dem der ungespritzten Kontrolltiere lag.

IV. D I S K U S S I O N

JOHNSON und Mitarbeiter beobachteten bei Versuchen an Gunn-Ratten, daß die Häufigkeit und die Schwere der Ganglienzellveränderungen in Relation zum Grad der Hyperbilirubinämie stehen.(16)

Dabei herrscht allgemein die Ansicht (DIAMOND und SCHMID (9), ODELL (21/22), FRENZEL (10) u.a.), daß das Risiko eines Kernikterus nicht durch die Konzentration des Gesamtbilirubins bestimmt ist, sondern durch den Anteil des freien, nicht mehr an Albumin gebundenen Farbstoffes.

In Anlehnung an die Beobachtungen von SILVERMAN (28), in denen von einem verstärkten Auftreten eines Kernikterus bei mit Gantrisin^R behandelten Frühgeborenen berichtet wird, stellten JOHNSON und Mitarbeiter (16) bei jungen Gunn-Ratten, denen verschiedene Sulfonamide injiziert wurden, eine höhere Mortalitätsrate fest als bei Tieren aus dem gleichen Wurf, die keine Medikamente erhielten. Dabei war noch besonders beachtenswert, daß der Serum-Bilirubinspiegel durch die Injektion dieser Pharmaka absank, während gleichzeitig bei der Autopsie eine intensivere Gelbfärbung des Fett- und Bindegewebes sowie des Zentralnervensystems zu bemerken war. JOHNSON ist wie ODELL (19/20) der Meinung, daß es sich hier um eine Konkurrenzreaktion zwischen Bilirubin und den Sulfonamiden um die Albuminbindungsstellen handelt.

In einer späteren Studie testeten JOHNSON und Mitarbeiter bei den ikterischen Gunn-

Ratten weitere Substanzen, die mit Bilirubin um die Albuminbindung konkurrieren.(17) Es ergab sich bei den auch von mir untersuchten Substanzen, Sulfadimethoxin und Coffeinum n.b., eine Zunahme der Kernikterusrate bei gleichzeitigem Abfall des Serumbilirubinspiegels. Bei einer Dosis von 200 mg/kg Sulfadimethoxin sank das Bilirubin im Serum innerhalb einer halben Stunde um durchschnittlich 80% des Ausgangswertes; Coffeinum n.b. in der Menge von 80 mg/kg vermochte das Serumbilirubin im gleichen Zeitraum um etwa ein Drittel des Ausgangswertes zu senken.

Bei meinen Versuchen fiel der Bilirubinspiegel nach 30 Minuten bei Madribon-Gaben von 50, 100 bzw. 300 mg/kg um 65-70% und nach 100 mg/kg Coffeinum n.b. um 30% des Ausgangswertes. Diese Befunde stimmen somit weitgehend mit den Ergebnissen von JOHNSON und Mitarbeitern überein.

1969 wurde von SCHUTTA und JOHNSON die Wirkung von Sulfadimethoxin bei homozygoten Gunn-Ratten weiter untersucht.(26) Bei Tieren im Alter von 18 Stunden bis 33 Tagen wurden nach Verabreichung einer Dosis von 100-150 mg/kg Sulfadimethoxin die neurologische Symptomatik und die morphologischen Veränderungen im Zentralnervensystem mit unterschiedlicher Gradeinteilung registriert. Dabei kam es den Autoren auf Veränderungen der einzelnen Parameter in Abhängigkeit zum Alter der Gunn-Ratten an. Es konnte gezeigt werden, daß die homozygoten Gunn-Ratten, die 18-48 Stunden nach der Geburt Sulfadimethoxin erhielten, ~~schwerere~~ neurologische Veränderungen aufwiesen als ältere Tiere mit ähnlichen Bilirubinausgangsspiegeln.

Ferner wurde deutlich, daß der Grad der Veränderungen nach der Verabreichung von Sulfadimethoxin in direkter Relation zur Bilirubinkonzentration vor der Injektion stand.

Um den Bestrahlungseffekt auf die Kern-
ikterusinzidenz elektiv erfassen zu können,
wurden in meinen Versuchen nur Ratten einer
Altersstufe (3-5Tage) mit etwa gleichen
Bilirubinausgangswerten (8-9 mg%) ver-
wendet.

Bei der histologischen Untersuchung
der Kleinhirne zeigten zwar alle von SCHUTTA
und JOHNSON getesteten Tiere die für Gunn-
Ratten typischen Abnormitäten, doch war bei
den Tieren, die Sulfadimethoxin erhalten
hatten, die Zerstörung der Purkinjezellen
größer als bei nicht-injizierten homozygo-
ten Kontrolltieren.

Dies steht im Einklang mit den von
HANEFELD und mir gewonnenen Ergebnissen.
Die histochemischen Kleinhirnuntersuchun-
gen der mit Madribon^R, VIL, Coffeinum n.b.
sowie mit Kombinationen der Stoffe injizier-
ten Gunn-Ratten haben ergeben, daß bei den
im Dunkeln gehaltenen Tieren eine deutliche
Zerstörung der Purkinje-Zellen nachweisbar
ist. Dagegen war die Ganglienzellzerstörung
der nach Medikamentengabe bestrahlten Tie-
re aufgehoben bzw. deutlich verringert.
Der schädliche Effekt einer Bilirubinver-
drängung durch VIL und Coffeinum n.b. konn-
te durch die Bestrahlung nahezu ganz kom-
pensiert werden. Nach der Injektion von
Madribon oder dessen Kombination mit VIL
konnte durch die Bestrahlung die Entwick-

lung eines Kernikterus zwar reduziert, doch nicht ganz aufgehoben werden.

Da SCHUTTA und JOHNSON bei der Beurteilung der Purkinjezellen auf die Schwierigkeit stießen, daß diese mit dem Phasenkontrastmikroskop oder nach herkömmlicher Färbung und anschließender Betrachtung im Lichtmikroskop erst 10 Tage nach der Geburt klar abzugrenzen sind, wurde bei meinen Versuchstieren das histochemische Verfahren zur Beurteilung der Purkinje-Zellen angewandt.

Daß für die Entstehung eines Kernikterus der Spiegel des freien, nicht an Albumin gebundenen Bilirubins, entscheidend ist, und dieser Anteil durch Medikamente erhöht werden kann, haben WINDORFER jun. und Mitarbeiter (31) in ikterischen Seren mit Hilfe der Trennung der Proben über Sephadexsäulen nachgewiesen. Zu den untersuchten Substanzen gehörten u.a. die injizierbare Diazepam-Lösung sowie deren Lösungsvermittler. Eine erhöhte Albumin-Bilirubin-Dissoziation kam allein durch den Lösungsvermittler zustande.

BRATLIED und LANGSLET (7) studierten den Effekt von drei verschiedenen Diazepam-Präparaten auf die Bilirubin-Albuminbindung in vitro. Dabei enthielten zwei, Valium^R und Stesolid^R in ihren Lösungsvermittlern Benzoate, während die dritte Substanz, Vival^R keine Benzoesäureabkömmlinge enthielt. Nach dem Prinzip, daß auch Erythrozyten imstande sind Bilirubin zu binden, und daß diese Bindung das Maß der Albuminbindung des Bilirubins reziprok widerspiegelt,

konnten die Autoren nach Valium^R und Stesolid^R ein Anwachsen der Zellularbindung von Bilirubin verzeichnen, während Vival^R keinen derartigen Effekt ausübte.

Auch SCHIFF und Mitarbeiter (24) weisen darauf hin, daß eine große Zahl endogener und exogener Substanzen mit Bilirubin um die Albuminbindungsstellen konkurrieren können. Sie haben festgestellt, daß beim Diazepam und Coffeinum n.b. nicht die Wirkstoffe selbst die Bilirubinverdrängung bewirken, sondern die ihnen beigefügten Lösungsstabilisatoren, vorwiegend die Benzolate. Doch während Coffeinum n.b. das Bilirubin wesentlich stärker vom Albumin verdrängt als Natrium benzoicum allein, zeigt sich bei der isolierten Gabe der Diazepam-Lösungsvermittler ein etwa gleich großer Verdrängungseffekt wie bei ihrer Kombination mit dem Wirkstoff Diazepam. Für eine exakte Beurteilung -hinsichtlich der Bilirubinverdrängung eines Medikamentes- ist es demnach erforderlich, jeden Wirkstoff und jeden Stabilisator isoliert und in der in den Ampullen enthaltenen Kombination zu testen.

Daß für die Verdrängung des Bilirubins vom Albumin allein der Lösungsstabilisator des Valium^R verantwortlich ist, können meine Untersuchungen bestätigen. Die Bilirubinspiegel nach der Injektion von Valium^R bzw. seinem Lösungsvermittler (VIL) allein zeigten praktisch keine Unterschiede. Dabei war die Prüfung von Valium^R nur in stärkerer Verdünnung (1:3 - 0,01 ml/g) möglich, da bei höherer Dosis der sedierende Effekt sich störend auf die Saugfähigkeit der Tiere

auswirkte.

Bei der Beurteilung dieser Ergebnisse hinsichtlich ihrer klinischen Bedeutung muß berücksichtigt werden, daß in der Klinik selten so kritische Bedingungen vorherrschen wie in den beschriebenen Tierversuchen. Die Dosen, die in den Tieruntersuchungen angewandt wurden, überstiegen die klinisch empfohlenen Dosen erheblich. Ferner muß berücksichtigt werden, daß im Tierexperiment die gesamte Dosis auf einmal injiziert wurde, während in der Klinik die Medikamente fraktioniert gegeben werden. Es muß auch erwähnt werden, daß im Tierexperiment die Bestrahlung der Ratten erst nach der Injektion der Medikamente einsetzte, und daß die Bilirubinverdrängung durch die relativ hohe Dosis sehr rasch erfolgte. Dennoch vermochte die Bestrahlung mit blauem Licht den schädlichen Effekt der durch diese Substanzen induzierten Bilirubinfreisetzung erheblich zu reduzieren, wenn auch nicht immer ganz aufzuheben.

V. Z U S A M M E N F A S S U N G

Bei 3-5 Tage alten Gunn-Ratten wurde die kompetitive Verdrängung von Bilirubin aus der Albuminbindung durch VALIUM^R bzw. seine Lösungsvermittler (VIL), ferner durch COFFEINUM NATRIUM BENZOICUM und SULFADIMETHOXIN (MADRIBON^R) untersucht. Insbesondere interessierte der Einfluß einer zusätzlichen Phototherapie auf die Mortalitätsrate und das Gewichtsverhalten, die morphologischen Veränderungen im Kleinhirn sowie auf den Serum-bilirubinspiegel.

Die Mortalitätsrate unterschied sich nach der einmaligen Injektion von ca. 1/3 der LD 50 dieser Substanzen nicht wesentlich von der homozygoter Kontrolltiere, die keine Injektionen erhielten. Ein schützender Effekt des Lichtes wurde erst nach der Injektion höherer Konzentrationen des Lösungsvermittlers von VALIUM^R (VIL 1:2 - 0,01 ml/g) erkennbar. Während von den Tieren im Dunkeln nur 29% überlebten, verhielten sich im Licht gehaltene Tiere wie homozygote nicht-injizierte Kontrolltiere. Noch deutlicher wurde es bei der Kombination von zwei Stoffen (VIL + COFFEINUM N.B. bzw. VIL + MADRIBON^R). Von den nicht-bestrahlten Gunn-Ratten überlebten nahezu keine die 4-Tage-Testperiode, während bei den bestrahlten Tieren 56% bzw. 67% am Leben blieben.

Bei der Betrachtung des Gewichtsverhaltens konnte erstens festgestellt werden, daß alle injizierten Ratten weniger an Gewicht zunahmen als ihre entsprechenden nicht-injizierten Kontrolltiere. Zweitens

konnte eine gewisse Parallele zur Mortalität beobachtet werden. In den Tiergruppen mit der größten Sterblichkeit (VIL + MADRIBON^R) ergab sich bei den Überlebenden der geringste Gewichtsansatz. Umgekehrt läßt sich sagen, daß die Gewichtszunahme bei den Ratten mit der geringsten Mortalitätsrate (VIL 1:3 - 0,01 ml/g) am größten war.

Ein Abfall des Bilirubinspiegels im Serum war nach der Medikamentengabe zu erwarten. 30 Minuten nach der Injektion von VIL, COFFEINUM N.B. und der Kombination beider Substanzen kam es ohne Bestrahlung zu einem etwa gleich starkem Bilirubinabfall. Doch die Zufuhr von VIL (1:3- 0,01 ml/g) bzw. der Kombination mit COFFEINUM N.B. (100 mg/kg) bewirkte einen langsameren Wiederanstieg des Bilirubins als die von COFFEINUM N.B. allein. Die Kombination VIL (1:3 - 0,01 ml/g) + MADRIBON (100 mg/kg) führte zu keinem weiteren Abfall des Bilirubinspiegels als die Injektion von MADRIBON^R allein. Dabei ist zu erwähnen, daß bereits 50 mg/kg MADRIBON^R den Bilirubinspiegel so weit erniedrigten wie die höhere Sulfadimethoxin-Dosis von 300 mg/kg. Die Bilirubinwerte der mit COFFEINUM N.B. bzw. VIL injizierten bestrahlten Tiere unterschieden sich nicht wesentlich von den nicht-injizierten bestrahlten homozygoten Kontrolltieren.

Anhand histochemischer Untersuchungen von Kleinhirnschnitten der die 4-Tage-Testperiode überlebenden Säuglingsratten wurde geprüft, inwieweit sich bei diesen Ratten ein Kernikterus ausgebildet hat. Das Ausmaß der Purkinje-Zellzerstörung dien-

te dabei als Gradmesser. Bei den Tieren, die VIL (1:3 - 0,01 ml/g), COFFEINUM N.B. (100 mg/kg) oder beide Substanzen injiziert bekamen, war bei den im Dunkeln gehaltenen Tieren eine deutliche Zerstörung der Purkinjezellen zu verzeichnen, während die entsprechenden bestrahlten Tiere meist normale oder noch fraglich normale Purkinjezellen aufwiesen. Nach der Injektion von MADRIBON (100 mg/kg) oder dessen Kombination mit VIL (1:3 - 0,01 ml/g) wurden jedoch auch bei den bestrahlten Gunn-Ratten vermehrt anormale Purkinje-Zellen gesehen.

Die anfangs gestellte Frage, ob die Fototherapie die Gefahr eines Kernikterus, der im Gefolge einer kompetitiven Wirkung verschiedener Substanzen auf die Bilirubin-Albuminbindung eintritt, reduzieren kann, kann nach den vorgelegten Ergebnissen dahingehend beantwortet werden: Die Bestrahlung mit blauem Licht mildert den schädlichen Effekt erheblich, kann ihn jedoch nicht immer ganz aufheben.

LITERATURVERZEICHNIS

=====

- 1 BALLOWITZ, L.; HELIER, R.; NATZSCHKA, J.
und OTT, M.: The Effect of Blue Light
on Infant Gunn Rats.
Birth Defects: Orig. Art. Ser. 6: 106-113, 1970
- 2 BALLOWITZ, L.: Effects of Blue and White
Light on Infant (Gunn) Rats and on
Lactating Mother Rats.
Biol. Neonate 19 : 409-425, 1971
- 3 BALLOWITZ, L.: Hyperbilirubinämie bei
Neu- und Frühgeborenen.
Pädiat. prax. 13 : 213-230 , 1973/74
- 4 BALLOWITZ, L. und HANEFELD, F.: Effect of
Drugs on Infant Gunn Rats under Photo-
therapie.
Birth Defects: Orig. Art. Ser. im Druck
- 5 BARKA, T. und ANDERSON, P. J.: Histochemistry,
Hoeber Medical Division, New York, Evanston,
London 1965
- 6 BEHRENS, B. und KÄRBER, G.: Wie sind Reihen-
versuche für biologische Auswertungen am
zweckmäßigsten anzuordnen?
Naunyn-Schmiedeberg's Archiv für Expe-
rimentelle Pathologie und Pharmakologie
177 : 379-388 , 1935
- 7 BRATLID, D. und LANGSLET, A.: Displacement
of albumin-bound bilirubin by injectable
Diazepam preparations in vitro.
Acta Paediat Scand 62 : 510-512, 1973

- 8 CREMER, R.C.; PERRYMAN, P.W. und RICHARDS, D.H.: Influence of light on the hyperbilirubinaemie of infants.
Lancet 1: 1094 - 1097 , 1958

- 9 DIAMOND, I.; SCHMID, R.: Experimental bilirubin encephalopathie. The mode of entry of bilirubin-¹⁴C into the central nervous system.
J.clin.Invest. 45 , 678-689, 1966

- 10 FRENZEL, J.; SANDER, I. und SCHRAMM, D.: Comparative Analysis between Albumin-Binding Capacity and the Concentration of Unbound Bilirubin in Hyperbilirubinaemie Sera of Newborn Infants.
Z.Kinderheilk. 115, 187 - 192 , 1973

- 11 HAMPEL, C.: Die Wirkung verschiedener Leuchtstofflampen auf das Serumbilirubin in vivo und in vitro.
Inaug.Diss. FU Berlin 1975

- 12 HANEFELD, F. und NATZSCHKA, J.: Histochemical studies in infant Gunn rats with kernikterus.
Neuropäd. 4 : 428-438 , 1971

- 13 HELLER, R.: Einfluß der Bestrahlung mit blauem Licht auf neugeborene Gunn-Ratten.
Inaug.Diss. FU Berlin 1972

- 14 HEUBEL, F.; MÜHLBERGER, G.: Senkung des Neugeborenen-Bilirubinspiegels durch Diazepam.
Int.J.clin.Pharmacol. 64 : 332-341, 1972

- 15 HSIA,D.Y.Y.;ALLEN,F.H.;GELLIS,S.S. und
DIAMOND,L.K.: Studies of Serum Bilirubin
in Relation to Kernikterus.
New Engl.J.Med. 247: 668 , 1957
- 16 JOHNSON,L.;SARMIENTO,F.;BLANC,W.A. und
DAY,R.: Kernikterus in Rats with an
Inherited Deficiency of Glucuronyl Trans-
ferase.
Amer.J.Dis.Child. 97: 591-608 , 1959
- 17 JOHNSON,L.;GARCIA,M.L.;FIGUEROA,E. und
SARMIENTO,F.: Kernikterus in Rats Lacking
Glucuronyl Transferase.
Amer.J.Dis.Child. 101: 322-349 , 1961
- 18 KRISPONEIT,H.D.: Phototherapie und Sul-
fonamidbehandlung infantiler Gunn-Ratten.
Inaug.Diss. FU Berlin in Vorbereitung
- 19 ODELL,G.B.: Protein Binding of Bilirubin
and Its Possible Relationship to Kernicterus.
A.M.A.J.Dis.Child. 98 , 624 , 1959
- 20 ODELL,G.B.: Studies in Kernicterus:
I. The Protein Binding of Bilirubin.
J.Clin.Invest. 38 , 823 , 1959
- 21 ODELL,G.B.: The distribution of bilirubin
between albumin and mitochondria.
J.Pediat. 68: 164 , 1966
- 22 ODELL,G.B.: The distribution and toxicity
of bilirubin.
Pediatrics 46 , 16 , 1970
- 23 RANDAL,L.O.;SCHECKEL,C.L. und BANZIGER,R.F.:
Pharmacology of the Metabolites of Chlor-
diazepoxide and Diazepam.
Cur.Therap.Res. 7 , 590-606 , 1965

- 24 SCHIFF,D.;CHAN,G. und STERN,L.: Fixed drug combinations and the displacement of bilirubin from albumin.
Pediatrics, 48 : 139, 1971
- 25 SCHMID,R.;AXELROD,J.;HAMMAKER,L. und SWARM,R.L.: Congenital jaundice in rats, due to a defect in glucuronide formation.
J.Clin.Invest. 37: 1123-1129 , 1958
- 26 SCHUTTA,H.S. und JOHNSON,L.: Clinical signs and morphologic abnormalities in Gunn rats treated with sulfadimethoxine.
J.Ped. 75: 1070-1079 , 1969
- 27 SILBERBERG,D.H.;JOHNSON,L. und RITTER,L.: Factors influencing toxicity of bilirubin in cerebellum tissue culture.
J.Ped. 77: 386-396 , 1970
- 28 SILVERMAN,W.A.;ANDERSON,D.H.;BLANC,W.A. und CROZIER,D.N.: A difference in mortality rate and incidence of kernicterus among premature infants allotted to two prophylactic antibacterial regimes.
Pediatrics, 18 , 614 , 1956
- 29 SISSON,T.R.C.;KENDALL,N.;SHAW,E. und KECHAVARZ-OLIAI,L.: Phototherapy of jaundice in the newborn infant.
II. Effect of various light intensities.
J.Ped. 81 : 35-38 , 1972
- 30 STERN,L.: Drug Interactions - Part II. Drugs, the Newborn Infant, and the Binding of Bilirubin to Albumin.
Pediatrics , 49: 916-918 , 1972

- 31 WINDORFER jun.,A. und MIHAILOVA,K.:
Der Einfluß verschiedener Medikamente
und ph-Werte auf die Albumin-Bilirubin-
Bindung in vitro.
Z.Kinderheilk. 114: 83-92 , 1973
- 32 WINDORFER jun.,A.;MIHAILOVA,K. und
PRINGSHEIM,W.: Besteht erhöhte Gefahr
einer Bilirubinenzephalopathie im Neu-
geborenenalter durch eine medikamentöse
Therapie?
Dtsch.med.Wschr. 98: 1260-1267 , 1973

Frau Prof.Dr.L.BALLOWITZ möchte ich sehr herzlich für die Überlassung des Themas, für das persönliche Interesse am Fortgang der Arbeit sowie für die kritische Durchsicht der Arbeit danken.

Ebenso bin ich Herrn Prof.Dr.V.HANEFELD für die histochemischen Untersuchungen der Kleinhirnschnitte zu großem Dank verpflichtet.

Der Firma HOFFMANN LA ROCHE, die den Lösungsvermittler des Valiums (VIL) für diese Versuche isoliert (ohne Wirkstoff) zur Verfügung gestellt hat, sei ebenfalls gedankt.

Ferner gilt es den medizinisch-technischen Assistentinnen Frau S.WOLLERMANN und Frau A.KRETSCHMER für ihre freundliche Unterstützung bei der Handhabung der Versuchstiere zu danken.

LEBENS LAUF

=====

Am 28. Juli 1947 wurde ich in Berlin geboren. In Berlin besuchte ich nach vier Grundschuljahren das Gymnasium. 1968 legte ich dort das Abitur ab.

Das Medizinstudium begann ich 1969 an der Freien Universität Berlin, wo ich 1970 die naturwissenschaftliche Vorprüfung, 1972 die ärztliche Vorprüfung und am 4. März 1975 die ärztliche Prüfung bestand.

Zur Zeit arbeite ich als Medizinalassistent. Meine Medizinalassistentenzeit absolviere ich an der Universitätsklinik im Klinikum Charlottenburg auf der Anästhesiologie und Inneren Abteilung, an der Universitätsklinik im Klinikum Steglitz auf der Geburtshilflichen-Gynäkologischen Abteilung sowie im Martin-Luther Krankenhaus in der Chirurgie.

